ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1973 — N° 59

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTION DES CORTICOIDES SUR L'ERYTHROPOIESE : UTILISATION DE LA METHYLPREDNISOLONE HEMISUCCINATE DE SODIUM AU COURS D'ANEMIE POSTHEMORRAGIQUE CHEZ LE CHIEN

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1973

DEVANT L'UNIVERSITÉ PAUL SABATIER DE TOULOUSE

PAR

Bernard ALBAN

né le 4 Janvier 1943, à BOURG-EN-BRESSE (01)

JURY :

Président : M. GADRAT, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Assesseurs : M. FLORIO, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
M. LESCURE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

LYON
Imp. Bosc Frères - Lyon
42, quai Gailleton, 42
—
1973

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTION DES CORTICOIDES SUR L'ERYTHROPOIESE :

UTILISATION DE LA METHYLPREDNISOLONE HEMISUCCINATE DE SODIUM AU COURS D'ANEMIE POSTHEMORRAGIQUE CHEZ LE CHIEN

ALBAN 1

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549604_0045

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Année 1973 — N° 59

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ACTION DES CORTICOIDES SUR L'ERYTHROPOIESE : UTILISATION DE LA METHYLPREDNISOLONE HEMISUCCINATE DE SODIUM AU COURS D'ANEMIE POSTHEMORRAGIQUE CHEZ LE CHIEN

THÈSE

POUR LE DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

DIPLOME D'ÉTAT

présentée et soutenue publiquement en 1973

DEVANT L'UNIVERSITÉ PAUL SABATIER DE TOULOUSE

PAR

Bernard ALBAN

né le 4 Janvier 1943, à BOURG-EN-BRESSE (01)

JURY :

Président : M. GADRAT, Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Assesseurs : M. FLORIO, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.
M. LESCURE, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

LYON
Imp. Bosc Frères - Lyon
42, quai Gailleton, 42

1973

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

DIRECTEUR ..... MM. LAUTIE
DIRECTEURS HONORAIRES ..... PONS, DARRASPEN, FLORIO
PROFESSEUR HONORAIRE ..... LOMBARD

PERSONNEL ENSEIGNANT

Chaire de Pharmacie et Toxicologie.
Professeur titulaire ..... **M. Godfrain**
Maître-Assistant ..... M^me **Burgat-Sacaze**
Pharmacie et Toxicologie

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales.
Professeur titulaire ..... **MM. Rico**
Maître-Assistant ..... **Braun**
Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques.
Professeur titulaire ..... **MM. Pavaux**
Anatomie descriptive - Extérieur
Anatomie appliquée - Tératologie

Chaire de Physiologie et Thérapeutique.
Professeur titulaire ..... **MM. Ruckebusch**
Maître de Conférences, non Chef de Service ..... **Fargeas**
Maître-Assistant ..... **Toutain**
Physiologie - Thérapeutique et Pharmacodynamie

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique.
Professeur titulaire ..... **MM. Van Haverbeke**
Professeur sans Chaire .... **Cabanié**
Maître-Assistant ..... **Magnol**
Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique

Chaire d'Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale.
Professeur titulaire ..... **MM. Labie**
Maître-Assistant ..... **Eeckhoutte**
Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des Denrées alimentaires d'origine animale

Chaire de Parasitologie et Maladies Parasitaires.
Professeur titulaire ..... **MM. Brizard**
Maître-Assistant Agrégé .. **Dorchies**
Zoologie appliquée - Parasitologie externe
Parasitologie interne - Clinique

Chaire de Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores.
Professeur titulaire ..... **MM. Florio**
Professeur sans Chaire .... **Lescure**
Maître-Assistant ..... **Guelfi**
Séméiologie et Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie - Clinique

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour.
Professeur titulaire ..... **MM. Tournut**
Professeur sans Chaire .... **Espinasse**
Maître-Assistant ..... **Bézille**
Séméiologie et Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour - Clinique
Clinique ambulatoire

Chaire de Pathologie Chirurgicale.
Professeur titulaire ..... **M. Cazieux**
Propédeutique et Séméiologie Chirurgicale
Technique Chirurgicale - Pathologie Chirurgicale

Chaire de Pathologie de la Reproduction.
Professeur titulaire ..... **MM. Berthelon**
Professeur sans Chaire .... **Royal**
Maître-Assistant ..... **Tainturier**
Séméiologie et Propédeutique
Pathologie de la Reproduction - Obstétrique
Clinique

Chaire de Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire.
Professeur titulaire ..... **MM. Saurat**
Maître-Assistant Agrégé .. **Chantal**
Maladies Contagieuses - Zoonoses
Législation Sanitaire

Chaire de Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie.
Professeur titulaire ..... **MM. Lautié**
Maître-Assistant ..... **Meignier**
Microbiologie - Immunologie - Pathologie générale

Chaire de Zootechnie et Economie Rurale.
Professeur titulaire ..... **MM. Queinnec**
Maître-Assistant ..... **Darre**
Ethnologie - Génétique appliquée - Hygiène générale
Zootechnie - Elevage
Economie Générale et des Productions animales

Chaire d'Alimentation.
Professeur titulaire ..... **MM. Fallu**
Maître de Conférences, non Chef de Service ..... **Griess**
Maître-Assistant ..... **Paragon**
Botanique appliquée et Bromatologie
Agronomie - Alimentation

COURS COMPLEMENTAIRES — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Antibiothérapie des Maladies Infectieuses ..... **MM. Monnier**
Aspect médical des Zoonoses ..... **Armengaud**
Energétique ..... **Labouche**
Initiation à l'Informatique Biomédicale ..... **Fernet**
Agronomie ..... **Combret**
Métabolismes ..... **Reynaud**

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924)

UNIV. LEIDEN BIBL.

A MES PARENTS

A MA SŒUR

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GADRAT

de l'Université Paul-Sabatier de Toulouse

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR FLORIO

Directeur honoraire
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Chevalier de la Légion d'Honneur
Officier de l'Ordre National du Mérite

Nous lui sommes reconnaissant d'avoir accepté de juger notre travail.

Hommage respectueux et profonde gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR LESCURE

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Nous avons pu apprécier, durant notre scolarité, ses grandes qualités professionnelles et humaines.

Nous le prions de trouver ici l'expression de notre profond respect.

A TOUS NOS MAITRES
DE L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE
DE TOULOUSE

INTRODUCTION

La vie des hématies est limitée et cependant leur nombre est maintenu à un taux constant, du fait d'une fabrication médullaire quotidienne adaptée aux variations plus ou moins importantes du nombre de globules rouges.

Il existe donc des mécanismes régulateurs de l'érythropoïèse.

Les corticoïdes sont utilisés pour lutter contre certaines affections (cancer, maladies auto-immunes, aplasie médullaire, parasitose des globules rouges).

Il nous a semblé intéressant de connaître leur action sur l'érythropoïèse.

Les anémies étant particulièrement fréquentes chez le chien, nous avons pensé étudier l'action que pourrait avoir un corticoïde sur le nombre de globules rouges.

Cette étude a pour but de préciser si de telles hormones peuvent avoir une action suffisamment significative pour être utilisée dans la pratique de la clinique courante et si les résultats obtenus ne conduisent pas à formuler des contre-indications.

Dans la première partie de notre travail, nous rappelons quelques notions sur l'érythropoïèse qui nous permettront de faire une approche en ce qui concerne le mécanisme d'action des corticoïdes sur l'érythropoïèse.

Dans la deuxième partie, nous rappelons l'action de quelques corticoïdes utilisés chez différentes espèces d'animaux de laboratoires.

La troisième partie relate notre expérience personnelle et les conclusions que nous pouvons en déduire.

CHAPITRE PREMIER

ASPECTS MORPHOLOGIQUE ET DYNAMIQUE DE L'ERYTHROPOIESE - ERYTHROPOIETINE

L'ensemble des processus conduisant à la formation des globules rouges est désigné sous le nom d'érythropoïèse. Les nouveaux globules rouges formés le sont à partir d'une cellule sombre, " l'hémohistioblaste ", quel que soit le lieu de formation des hématies (foie et rate chez le fœtus, moëlle rouge chez le nouveau-né et durant toute la vie de l'individu).

Cet hémohistioblaste va subir deux types de transformation pour donner l'hématie finale. Il y a un processus de différenciation et un processus de maturation.

Cette production d'hématies est faite pour compenser la destruction qui se fait au niveau des formations réticulo-endothéliales du foie et de la rate. Chaque globule rouge a une demi-vie moyenne estimée à trente jours.

Le nombre des globules rouges est donc maintenu à un niveau constant, la production compensant la destruction. Mais cet équilibre ne peut exister que grâce à des mécanismes régulateurs de l'érythropoïèse.

Un bref rappel physiologique de tous ces éléments nous permettra de mieux comprendre les problèmes qui se posent pour tenter d'expliquer l'action des corticoïdes de l'érythropoïèse.

1. — Les cellules : les différents stades de transformation

L'observation d'un frottis médullaire coloré au May Grumwald Giemsa montre que 20 à 25 pour cent seulement des cellules appartiennent à la lignée érythroblastique. Ce sont là les véritables précurseurs des hématies. Le caractère principal de ces cellules est l'apparition progressive de l'acidophilie due à la charge en hémoglobine.

La cellule initiale, point de départ véritable de la lignée, est le proérythroblaste (pronormoblaste). C'est une cellule d'un diamètre de 20 µ environ possédant un volumineux noyau à chromatine relativement épaisse avec un ou deux nucléoles. Une mince bande de cytoplasme très basophile entoure ce noyau.

Chez le chien, ces cellules représentent environ un pour cent des cellules médullaires.

Ce proérythroblaste donne par mitose hémiplastique un autre proérythroblaste et un érythroblaste basophile I.

L'érythroblaste basophile I est une cellule légèrement plus petite de 15 à 18 µ de diamètre dont le noyau toujours volumineux est constitué par une chromatine assez épaisse. Il faut noter la disparition des nucléoles. La couche de cytoplasme qui entoure le noyau est légèrement plus épaisse ; elle présente une basophilie régulière et moins intense.

Par mitose hétéroplastique, cet érythroblaste basophile I va donner deux érythroblastes basophiles II peu différents de leurs prédécesseurs.

Chaque érythroblaste basophile II donne deux érythroblastes polychromatophiles.

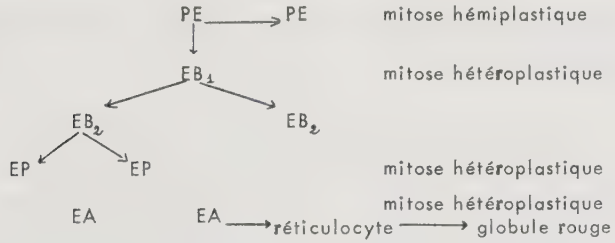
L'érythroblaste polychromatophile est une cellule nettement plus petite que les précédentes. Elle a un diamètre d'environ 12 µ. Cette cellule est de forme arrondie avec un noyau sphérique de petite taille, très souvent décentré ; sa chromatine forme des plaques volumineuses. Le cytoplasme abondant a une teinte violacée correspondant à la synthèse de l'hémoglobine.

Par une division hétéroplastique, l'érythroblaste polychromatophile donne deux érythroblastes acidophiles. Ce sont des cellules à peine plus volumineuses que le globule rouge circulant (10 μ environ). Le noyau forme un bloc unique sans structure apparente ; le cytoplasme est nettement acidophile.

Le réticulocyte fait suite. C'est une cellule qui ne comporte plus de noyau, ce dernier ayant été expulsé au stade précédent avec des fragments cytoplasmiques. Ils passent dans la circulation par diapédèse.

Ce stade de réticulocyte n'est pas obligatoire, si bien que le taux de réticulocytes sanguins n'est pas un reflet parfaitement fidèle de l'érythropoïèse.

Schéma de formation des globules rouges



PE = proérythroblaste
EB_1 = érythroblaste basophile I
EB_2 = érythroblaste basophile II
EP = érythroblaste polychromatophile
EA = érythroblaste acidophile

A ce concept anatomique s'ajoutent maintenant les épreuves isotopiques, en particulier celles faisant intervenir le fer 59 radioactif. Elles ont permis de confirmer de manière précise certains résultats. Des méthodes plus finies encore font intervenir le Thymidine Tritée.

Grâce à ce dernier corps radioactif incorporé à l'ADN, on a confirmé le fait qu'il existe bien trois mitoses entre le proérythroblaste et l'érythroblaste acidophile.

Chaque proérythroblaste donne donc huit cellules, les érythroblastes acidophiles qui, après maturation, conduisent à la naissance de huit globules rouges.

Ces méthodes ont permis de montrer que lors de ces processus, il y avait une partie inefficace ne conduisant pas à des globules rouges.

Certains réticulocytes seraient plus riches que d'autres en grains de fer. L'hypothèse a été émise que dans ce cas, le nombre de mitoses est inférieur à trois. Cela conduirait à ces éléments de taille supérieure à la moyenne. D'autres estiment que le pouvoir de synthèse de l'hémoglobine pourrait expliquer ce phénomène. D'autres pensent qu'un certain nombre de cellules mouraient pendant le processus de maturation.

2. — Mécanisme de différenciation d'une cellule souche en proérythroblaste

On sait depuis fort longtemps déjà que le facteur essentiel d'activité de l'érythropoïèse est l'hypoxie.

L'anémie est un facteur stimulant l'érythropoïèse, mais le mécanisme exact par lequel elle intervient n'est pas parfaitement établi ; sans doute est-ce un facteur d'hypoxie.

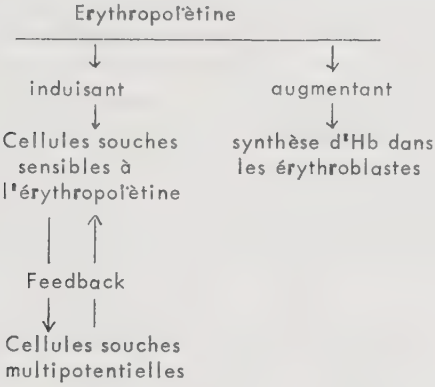
L'hypoxie influence l'activité érythropoïétique par l'intermédiaire d'un facteur humoral. Les premiers résultats satisfaisants ont été établis chez l'animal grâce aux expériences de parabiose. On place deux rats dans de telles conditions : l'un respire de l'air normal, l'autre un air appauvri en oxygène. Chez les deux animaux, il apparaît une hyperplasie érythropoïétique liée évidemment à un facteur humoral.

De nombreux travaux étudiant l'activité érythropoïétique du plasma ou de l'urine d'animaux soumis à l'hypoxie ou à une hémolyse ont confirmé l'existence du facteur humoral : l'érythropoïétine.

Il semble établi que l'érythropoïétine agit comme un inducteur de la différenciation des cellules souches, mais le mécanisme régulateur de la différenciation de ces cellules en pronormoblaste n'est pas encore parfaitement compris.

L'érythropoïétine non seulement induit cette différenciation, mais règle également la synthèse d'hémoglobine dans les érythroblastes encore capables de synthèse d'ARN.

Cette action peut être résumée par le schéma suivant :



3. — **Etude du facteur humoral : l'érythropoiétine**

a) Propriétés physico-chimiques.

Cette hormone n'a pas pu être isolée à l'état pur, mais on peut en réaliser le dosage. Il s'agit d'une glycoprotéine circulant dans le plasma et migrant avec les α 2 globulines.

C'est une protéine non dialysable, relativement thermostable et inactivée par les enzymes protéolytiques.

b) Lieu de production de l'érythropoiétine.

Il est admis de façon universelle que le rein joue un rôle essentiel dans la production de l'érythropoïétine.

La néphrectomie bilatérale inhibe, chez des rats par exemple, la capacité de réponse à la suite d'une hémorragie ; chez d'autres, elle abolit cette capacité.

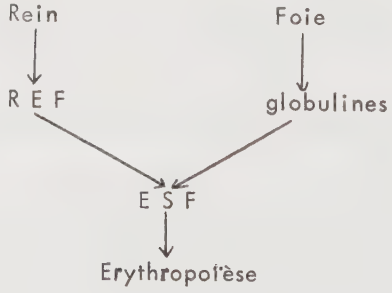
Si l'on injecte à de tels animaux de l'érythropoïétine exogène, l'érythropoïèse est rétablie de façon normale.

Il faut cependant signaler que chez certaines espèces et chez l'homme, le rein ne serait pas le seul organe susceptible de secréter cette hormone. Le lieu de formation de cette érythropoïétine extra-rénale n'est pas encore connu.

Des observations de Gordon, Cooper et Zanzani (1967) suggèrent l'existence d'un facteur érythropoïétique rénal (REF) contenu dans une fraction mitochondriale des cellules rénales au niveau de l'appareil juxtaglomérulaire.

Ce facteur érythropoïétique rénal serait probablement de nature enzymatique et agirait sur un substrat sérique pour produire un principe actif : Erythropoïétine Stimulating Factor ou E.S.F.

Ce facteur sérique serait une globuline produite dans le foie et présente normalement dans le sérum.



c) Régulation de la production d'érythropoiétine.

On a pu démontrer que le taux d'érythropoïétine augmente dans le plasma ou dans l'urine, à la suite d'une hémorragie, d'analyse de globules rouges ou d'une hypoxie.

Ce taux diminue quand la masse des globules rouges augmente.

Ces observations ont permis à Fried, Flzak et Goldwasser (1957) de proposer la théorie de " demande d'approvisionnement des tissus en oxygène " comme mécanisme régulateur de la production d'érythropoïétine.

A la suite d'un défaut d'oxygénation dans les tissus, le rein secrète davantage d'érythropoïétine. Si au contraire, l'oxygénation est excessive, le rein freine alors la production d'érythropoïétine.

D'autres auteurs pensent que ce mécanisme de régulation ne serait pas le seul. Il y aurait un mécanisme de feed back à partir du sang périphérique faisant intervenir soit un " facteur stimulant ", soit un " facteur inhibiteur ".

d) Determination de l'activité de l'érythropoiétine.

Plusieurs procédés de détermination de l'activité de l'érythropoïétine ont été développés ces dernières années.

Aujourd'hui, les souris polycythémiques par hypoxie ou après transfusions répétées restent le matériel de détermination le plus sensible.

A la suite d'injection d'érythropoïétine, on mesure l'augmentation des globules rouges grâce à l'incorporation de Fe 59 dans le sang circulant. Le pourcentage de Fe 59 incorporé est directement proportionnel à la quantité d'érythropoïétine existante.

Une préparation de référence internationale est faite par le Docteur Cotes (Division of biological standards, National Institute for Medical Research, Mill Hill, London).

Pour le dosage in vitro, Scholley et Garcia (1962) ont produit une anti-érythropoïétine pour permettre ce dosage particulier.

e) Mode d'action de l'érythropoiétine.

L'érythropoïétine transforme les cellules souches en pronormoblastes. Les injections d'érythropoïétine provoquent la réapparition des érythroblastes chez les ron-

geurs dont l'érythropoïèse a été préalablement supprimée par polyglobulie. Chez ces animaux, on voit apparaître dans la moëlle et dans la rate les pronormoblastes de la 12e à la 18e heure, les normoblastes basophiles et polychromatophiles vers la 36e heure et vers la 48e heure débute une réticulocytose qui est maximale à la 72e heure.

Ces constatations montrent que l'érythropoïétine est une hormone qui différencie la cellule souche en proérythroblaste. Ce phénomène n'est ni précédé ni accompagné de division cellulaire comme on a pu le montrer à l'aide de la Thymidine tritée.

Des expériences " in vivo " font penser que l'érythropoïétine a aussi une action sur les cellules rouges déjà différenciées. Son injection entraîne une réponse réticulocytaire plus rapide chez des animaux normaux que chez des animaux hypertransfusés.

D'autre part, des injections répétées d'hormones donnent lieu à une production de macrocytes dont la durée de vie est raccourcie, le degré de macrocytose étant proportionnel à la dose d'érythropoïétine injectée.

Pour expliquer cette action, réticulocytose précoce et macrocytose, on a invoqué une maturation, une synthèse de l'hémoglobine accélérée et une réduction du nombre des mitoses.

La concentration d'hémoglobine dans le cytoplasme serait le facteur régulateur des mitoses. Le temps d'interphase étant fixe, le blocage de la synthèse d'ADN par un certain taux d'hémoglobine entraîne une diminution du nombre de mitoses, d'où une macrocytose.

La diminution du taux d'hémoglobine entraîne une augmentation du nombre de mitoses, d'où la production d'hématies microcytaires.

Le mode d'action intracellulaire sur les cellules souches et sur les cellules rouges déjà différenciées n'est pas encore connu.

f) Métabolisme de l'érythropoiétine.

Chez l'animal soumis à l'hypoxie, l'érythropoïétine apparaît en deux à trois heures pour atteindre son maximum à la seizième heure.

A partir de l'instant où le stimulus cesse, l'activité érythropoïétique décroit rapidement. Sa demi-vie serait de l'ordre de trois à cinq heures.

Des travaux expérimentaux ont montré qu'il n'y avait pas de différence dans la demi-vie de l'érythropoïétine chez le chien normal ou polyglobulique ou en hypoxie aiguë.

CHAPITRE DEUXIEME

ACTION DES CORTICOIDES SUR L'ERYTHROPOIESE

Les stéroïdes, d'une façon générale, sont considérés comme ayant une action sur l'érythropoïèse, que celle-ci soit normale ou pathologique. Les très nombreux travaux sur ce sujet nous montrent la complexité du problème et si les auteurs semblent d'accord sur les résultats obtenus, les mécanismes restent à préciser.

En ce qui concerne les corticoïdes, les avis sont partagés, car il intervient la notion de quantité de produit faite absorbée ou injectée à l'animal.

Il semble que de faibles doses stimuleraient la production et la formation des éléments souches des globules rouges. Cette stimulation ne serait pas significative.

Des doses importantes entraîneraient au contraire une inhibition de la fonction érythropoïétique de la moëlle.

Toutes les expériences faites conduisent au même résultat.

1. — Les expériences mettant en jeu de faibles doses de corticoïdes

a) Les expériences de néphrectomie bilatérale.

Des rats ayant subi une hypophysectomie ou une adrénalectomie reçoivent de faibles quantités d'hormones. On a remarqué que dans ce cas, il y a une augmentation de l'érythropoïèse.

Chez les rats normaux, des doses de 0,5 mg/kg d'hydrocortisone n'ont aucun effet apparent sur l'érythropoïèse.

Cette variation dans l'effet érythropoïétique serait due, d'après ses auteurs, au fait que l'hormone serait administrée en " doses de compensation " à un animal déficient ou en doses plus importantes que la dose physiologique chez des animaux normaux.

Des expériences du même genre conduites sur des chiens montrent que de tels animaux privés de surrénales et recevant 2 mg/kg d'acétate d'hydrocortisone durant 40 jours voient leur érythropoïèse augmenter.

b) Les expériences sur des animaux normaux.

Des souris recevant durant quatre jours 0,01 mg d'acétate de méthyl prednisolone, puis soumises à un stimulus hypoxique de vingt-quatre heures un jour après la dernière injection de MPA, n'ont aucune réaction significative.

Ces doses n'ont pas influencé le " R B C Fe " chez des souris normales et n'ont pas modifié l'augmentation en E.S.F. entraînée par l'hypoxie appliquée par la suite.

Des doses de 0,05 mg ne produisent aucun effet sensible sur les valeurs normales.

Ces quelques expériences semblent montrer que même de faibles doses de corticoïdes n'ont pas un effet significativement stimulant sur l'érythropoïèse dans les conditions physiologiques normales.

2. — **Les expériences mettant en jeu de fortes doses de corticoïdes**

a) Action de l'hydrocortisone.

Des expériences conduites chez des rats montrent qu'après quatre jours de traitement à des doses fortes d'acétate d'hydrocortisone, il se manifeste une réduction de l'érythropoïèse par une diminution de la présence de fer

dans les globules rouges et une clearence plus lente de la moëlle.

Chez ces mêmes rats, si l'on injecte en même temps de l'érythropoïétine, la présence de fer dans les érythrocytes périphériques est fondamentalement la même que celle constatée lorsque l'érythropoïétine est administrée seule. Ce résultat est obtenu à la fois chez des rats normaux et chez des rats déshydratés relativement polycythémiques.

Chez des animaux traités en même temps par l'hydrocortisone et la testostérone, la réponse érythropéïétique n'est pas plus importante que lorsque la testostérone est administrée seule.

En fait, la réponse avec les deux produits administrés simultanément est moindre que celle constatée quand l'androgène est administré seul.

Il découle de ces résultats que l'hydrocortisone n'a pas d'action stimulatrice propre vis à vis de l'érythropoïèse. Il est possible que l'érythropoïétine ou les androgènes soient capables de masquer un effet inhibiteur dû au corticoïde lorsque les produits sont administrés simultanément.

b) Action de l'acétate de méthyl prednisolone (MPA).

Si l'on administre à des souris témoins normales 4 mg de MPA par jour durant quatre jours, on note une diminution très nette du " R B C Fe ".

Si ces mêmes souris traitées de façon absolument identique sont soumises à l'hypoxie, on peut constater une diminution sensible de la réponse à l'hypoxie en contrôlant le R B C Fe.

L'administration simultanée d'ESF de mouton et de MPA nous montre qu'ESF aurait tendance à réduire l'influence inhibitrice exercée par le stéroïde, ceci en diminuant moins que chez les témoins recevant le seul MPA, le RBCFe.

Ces expériences montrent que le MPA administré à forte dose diminue l'érythropoïèse ; ces résultats étant contrôlés par le RBCFe.

c) Action de la cortisone.

De fortes doses de cortisone administrée à des rats diminuent la durée de vie des érythrocytes. Ces résultats sont contrôlés par la méthode au radio-chrome.

L'administration simultanée de méthénolone montre qu'il y a une prolongation de vie des érythrocytes ; l'androgène réduit, voire annule, l'effet inhibiteur de la cortisone.

3. — Mécanisme d'action

a) Observations cliniques.

Des observations cliniques concernant l'anémie idiopathique aplastique ont montré qu'un traitement intensif à long terme par les corticoïdes a donné quelques résultats positifs.

Dans les cas de rémission ou d'amélioration de la maladie, les effets du traitement ont été étudiés sur les acides nucléiques, le métabolisme des protéines dans les érythroblastes et les précurseurs granulocytiques de la moëlle. Cette étude a été faite grâce à l'utilisation de thymidine, leucine et iridine tritiée.

Chez ces malades, on note une incorporation accrue de leucine tritiée dans les érythroblastes. La même constatation est faite en ce qui concerne la thymidine tritiée.

D'autre part, les glycolyses aérobies et anaérobies des globules rouges périphériques ont été étudiés en mesurant la production de lactate. Les auteurs ont constaté que dans le cas où les stéroïdes étaient efficaces, cette production avait tendance à augmenter, tandis que dans le cas contraire, elle avait tendance à rester à un niveau assez bas.

Du point de vue médullaire, il y a augmentation des érythroblastes dans la moëlle un à trois mois après le début du traitement.

Cette étude clinique montre que l'action positive des corticoïdes peut être liée à une accélération de la synthèse des protéines dans les cellules de la moëlle osseuse et à un changement de la glycolyse du globule rouge.

b) Résultats expérimentaux.

Des expériences conduites sur des souris montrent que l'injection d'acétate de méthyl prednisolone (MPA) entraîne un décroit du nombre et une diminution de la réponse des cellules sensibles à ESF. On note cela à partir du fait qu'ESF est incapable de restaurer les valeurs radioferreuses.

Il semblerait que la réactivité réduite des cellules E S F sensitives se manifesterait pour des doses relativement faibles de M P A.

0,5 mg de M P A par jour durant quatre jours inhibe l'érythropoïèse chez des souris normales, diminue leur réponse à l'hypoxie et émousse la réaction de souris pléthoriques à E S F exogène.

Cette même dose n'affecte cependant pas la qualité d'E S F provoquée par l'hypoxie.

Des rats recevant à la fois de l'hydrocortisone et de l'érythropoïétine montrent que la présence de fer dans les érythrocytes périphériques est la même que celle constatée lorsque l'érythropoiétine est administrée seule.

Ce résultat est vérifié à la fois chez des rats normaux et des rats déshydratés relativement polycythémiques.

A la suite de ces constatations, les auteurs pensent que l'hydrocortisone pourrait influencer l'action de l'érythropoïétine sur la moelle de l'os.

Chez le chien sans surrénales, l'administration d'acétate d'hydrocortisone à la dose de 4 mg/kg durant quarante jours entraîne une stimulation de la moelle osseuse,

mais celle-ci ne se traduit pas par une production correcte de globules rouges.

Tous ces résultats montrent que les corticoïdes ont une action au niveau cellulaire.

Un second mécanisme impliquerait un effet suppressif de la production d'E S F. Cet effet ne se manifesterait que pour des quantités importantes de M P A. Cela est confirmé par l'observation suivante : le traitement avec une dose de 4 mg de M P A inhibe fortement l'augmentation en plasma E S F provoquée par l'hypoxie.

Cette action ne peut pas être imputée à l'apparition de facteurs circulant inhibant l'érythropoïèse car on a pu noter que le plasma obtenu chez des souris ayant reçu 4 mg de M P A est incapable d'abaisser le R B C F chez des souris normales.

D'autre part, ce plasma n'agit pas en arrêtant l'action d'E S F ou en renforçant la destruction ou l'excrétion d'E S F puisque le plasma n'inhibe pas l'augmentation de l'érythropoïèse induite par ESF exogène administré en même temps.

Chez des rats, l'administration conjointe de testostérone et d'hydrocortisone donne une réponse moindre que celle constatée avec l'androgène seul. Cette constatation fait émettre l'hypothèse que si la testostérone accroît la production d'érythropoïétine, l'hydrocortisone donnée en doses massives peut agir en diminuant la formation d'érythropoïétine.

Cependant, le mécanisme précis par lequel des doses importantes de corticoïdes inhibent la production d'ESF n'a pas été élucidé.

Cette étude bibliographique nous montre que la dose de corticoïdes utilisée n'importe pas du point de vue du résultat obtenu car dans aucun cas, il n'y a un effet significativement stimulant.

Du point de vue du mécanisme d'action, nous notons que de faibles doses agissent à un niveau cellulaire, tandis que des doses plus fortes agissent à un niveau hormonal.

CHAPITRE TROISIEME

EXPERIMENTATION PERSONNELLE

Les chiens qui vont servir à l'expérimentation proviennent de la campagne environnante. Ils ont un mode de vie et d'alimentation très différent de celui qu'ils vont connaître. Une adaptation de deux ou trois semaines est nécessaire. Des examens sanguins et médullaires sont pratiqués et lorsque deux examens consécutifs donnent des résultats identiques, nous considérons le chien comme apte à subir l'expérimentation. Celle-ci se divise en deux temps séparés par un intervalle de repos de l'ordre de quatre à six semaines.

Dans un premier temps, l'animal est saigné et ne reçoit pas de corticoïdes, dans le second temps, il reçoit des corticoïdes après la saignée. Les examens sanguins et médullaires sont pratiqués dans les deux cas à intervalle régulier.

A. — Choix des techniques et protocole expérimental

I. — Choix des techniques

Notre but est d'évaluer l'action de l'érythropoïèse chez le chien, sous l'action d'un corticoïde, afin de voir si l'administration d'un seul produit peut présenter un intérêt thérapeutique.

Diverses techniques sont utilisables. On emploie assez souvent aujourd'hui l'incorporation de Fe 59. C'est une technique précise et rapide mais elle nécessite un appareillage complexe qui n'est pas à la portée du clinicien pour la pratique courante de la médecine vétérinaire.

Il nous faut disposer de test relativement simple pouvant être appliqué rapidement par le praticien. Ces tests doivent nous montrer la stimulation de la moelle, l'apparition de formes jeunes de globules rouges dans le sang. Ils doivent permettre de dire si les hématies formées sont normales.

1) Les examens sanguins.

Le sang est prélevé par ponction veineuse sur milieu Wintrobe et examiné dans l'heure qui suit.

a) *Numération globulaire.*

Le sang est dilué au 1/200 à l'aide de la pipette de Potain, le diluant étant le liquide de Marcano.

La détermination du nombre des hématies se fait sous microscope grâce à la cellule de Thoma.

b) *Hématocrite.*

Il est réalisé dans les conditions suivantes : 3000 t/mn durant 30 minutes.

c) *Morphologie des globules rouges.*

Elle est étudiée sur un frottis sanguin coloré par le May Grumwald (5 mn) et Giemsa (dilué au 1/5, 12 mn).

On note l'anisocytose, c'est-à-dire le degré d'irrégularité des globules rouges dans leur forme et la polychromatophilie qui indique les variations d'intensité de fixation des colorants.

d) *Taux d'hémoglobine pour 100 ml de sang.*

Le dosage de l'hémoglobine dans le sang total est réalisé à l'aide de la technique à la cyaméthémoglobine. Les lectures sont effectuées sur photomètre " Lumetron ".

La numération globulaire et le taux d'hémoglobine nous permettent de calculer la valeur globulaire, c'est-à-dire la teneur globulaire moyenne en hémoglobine du globule rouge .Chez le chien, on peut considérer que cette valeur est de l'ordre de 22 µg.

e) *Numération des réticulocytes.*

Elle permet de déterminer l'importance effective de la régénération globulaire.

Nous utilisons la technique qui consiste à compter indirectement sur un frottis sanguin le nombre de réticulocytes par rapport à 1000 hématies.

Nous réalisons le frottis après coloration vitale du sang par le bleu de crésyl brillant.

Dans un tube à hémolyse, au bain-marie à 37°, on place 5 gouttes de cette solution, puis 5 gouttes de sang incoagulable (Wintrobe). L'étalement du frottis est réalisé quinze minutes plus tard. A partir de la numération globulaire, nous faisons une conversion pour connaître le nombre de réticulocytes par millimètre cube de sang.

2) L'examen de la moelle osseuse.

a) *Technique de la ponction osseuse.*

On ponctionne au niveau d'un os facilement accessible (sternum, crête iliaque).

La ponction sternale est celle que nous avons pratiquée pour notre expérimentation.

En dehors des localisations pathologiques, le myélogramme est identique quel que soit l'endroit de l'os où le prélèvement a été fait.

On utilise un trocart de Mallarmé, aiguille courte et solide, obturée par un mandrin biseauté. Pour aspirer la moelle, il faut se servir d'une seringue bien ajustée. Il est indispensable que ces instruments soient parfaitement secs car la moindre trace d'humidité risque de léser les cellules.

L'anesthésie locale des téguments n'est pas nécessaire car le seul instant pénible de la ponction se produit au moment de l'aspiration de la moelle.

On enfonce l'aiguille perpendiculairement à la peau au niveau du corps du sternèbre (4e, 5e ou 6e) ; on bute sur l'os qui oppose une certaine résistance et en forçant on éprouve une sensation de résistance vaincue. A ce moment, on retire le mandrin, on adapte la seringue et on aspire. Lorsque la goutte de moelle apparaît dans la seringue, le sujet accuse une légère douleur.

On confectionne immédiatement le frottis car la coagulation de la moelle est rapide. La coloration se fait au May Grumwald Giemsa.

b) *Myélogramme.*

C'est l'étude des éléments médullaires qui se fait au microscope à immersion. On compte trois cents cellules tout en notant le pourcentage des différentes cellules :

— proérythroblastes
— érythroblastes basophiles (première et deuxième génération)
— érythroblastes polychromatophiles
— érythroblastes acidophiles
— lymphocytes
— l'ensemble des autres cellules.

3) Rapport granulo-érythroblastique.

C'est le rapport de tous les éléments de la série granulocytaire aux éléments nucléés de la série des globules rouges.

Dans la moelle le rapport normal varie de 2 à 3. Cela signifie qu'il y a deux à trois fois plus d'éléments de la série blanche que de la série rouge. Ce chiffre, pour avoir une signification, doit être confronté au contexte hématologique général.

Lorsque la moelle est stimulée, ce nombre diminue et peut même atteindre la valeur I.

II. — **Protocole expérimental**

1) Examens préliminaires.

Ils sont absolument indispensables car les chiens que nous utilisons proviennent de la campagne environnante. Bien qu'étant en bonne santé, ils ont un mode de vie bien différent de celui qu'ils auront au chenil.

Une période d'observation de trois semaines environ est pratiquée. Durant cette période, ils sont observés chaque jour et reçoivent la même nourriture (un peu de viande, du bouillon de viande et du pain).

Les différents examens sont pratiqués tous les quatre jours. Lorsque deux examens consécutifs sont identiques, nous en pratiquons un troisième deux jours plus tard. Si les valeurs hématologiques restent constantes, le chien est utilisé pour l'expérimentation, si non, il est rejeté du cadre de l'expérimentation.

Chaque séance comporte une ponction sternale et une prise de sang et les différents examens décrits ci-dessus sont pratiqués.

2) Premier temps : étude de la régénération sanguine après saignée et sans administration de corticoïde

Dès que les trois examens dont nous avons parlé donnent des résultats identiques, nous débutons l'expérimentation.

Nous pratiquons une ponction sternale et prélevons 5 ml de sang sur Wintrobe.

Le chien est pesé pour nous permettre d'avoir une idée du volume sanguin total en prenant comme référence le fait que chez cette espèce, on peut considérer qu'il y a en moyenne 80 ml de sang par kilogramme de poids vif.

Nous avons décidé arbitrairement de prélever 20 % (1/5) du volume sanguin total.

Pour connaître la quantité de sang à prélever, nous utilisons la formule générale suivante :

$$\frac{P \times 80}{5} \quad (P = \text{poids du chien})$$

Cette saignée est pratiquée aux veines radiales antérieures ou aux veines saphènes externes à l'aide du dispositif de prélèvement sanguin utilisé chez l'homme.

Pour prélever la quantité de sang calculée, il faut trente minutes environ. Nous pouvons noter que les chiens ont bien supporté cette saignée, ils n'ont manifesté qu'une légère polypnée.

Suivant cette saignée, nous pratiquons cinq fois à quarante-huit heures d'intervalle une ponction veineuse (5 ml) et une ponction sternale pour réaliser les divers examens précités.

Ce dernier temps nous permettra de suivre la régénération sanguine qui suit la stimulation érythropoïétique liée à la saignée.

3) Deuxième temps : étude de la régénération sanguine apres saignée et avec administration de corticoïde.

Après les examens précédents, chaque chien subit une période de repos de quatre à cinq semaines, ceci afin d'éviter toute interférence entre la première et la seconde saignée.

Nous pratiquons deux examens complets à quarante-huit heures d'intervalle pour constater la constance des valeurs physiologiques. A la suite de quoi l'animal est saigné et les différents examens pratiqués comme nous l'avons indiqué.

L'animal reçoit en plus un corticoïde : le méthyl prednisolone hémisuccinate de sodium ou solumédrol (ND) à la dose de 1,5 mg par kilogramme de poids vif chaque jour, durant six jours.

Cette seconde partie nous permettra de noter l'action de stimulation érythropoïétique due à la saignée à laquelle s'ajoute l'action des corticoïdes.

La comparaison des deux types de résultats nous permettra de noter l'action spécifique du corticoïde utilisé.

B. — **Résultats expérimentaux**

Notre premier chien soumis à l'expérimentation est mort quelques jours après la fin du premier temps de l'expérience. L'autopsie nous a montré que le chien était mort à la suite d'une gastro-entérite hémorragique. Nous avons pu constater, d'autre part, que la ponction sternale ne laissait pratiquement aucune trace décelable à l'autopsie macroscopique. Nous mentionnerons le résultat obtenu à titre indicatif.

1. — **Chien N° 1**

Race commune, femelle, 3 ans, 18 kg - saignée 280 ml.

RÉTICULOCYTOSE.

Elle s'amorce dès le quatrième jour pour augmenter jusqu'au dixième jour sans atteindre cependant le taux initial qui semble anormalement élevé.

Numération globulaire.

Elle augmente à partir du quatrième jour pour atteindre pratiquement sa valeur initiale au dixième jour.

Hématocrite.

Le quatrième jour apparaît l'augmentation, mais celle-ci n'atteint pas sa valeur initiale.

Hémoglobine.

Elle augmente immédiatement après la saignée, puis sa valeur décroît sans cependant atteindre la valeur initiale.

Myélogramme.

La saignée provoque une chute du taux des cellules souches au deuxième jour. Celle-ci est suivie d'une remontée rapide jusqu'au septième jour. Il se manifeste alors une chute brutale du pourcentage des cellules souches.

Rapport granulo-érythroblastique.

Il traduit exactement le myélogramme. Sa valeur la plus faible (stimulation maximum) se situe au septième jour.

2. — **Chien N° 2**

Mâle braque, âgé de 4 ans, 21 kg - saignée de 300 ml.

Numération globulaire.

— *Sans corticoïdes :* la saignée provoque une chute assez brutale du nombre de globules rouges ; celui-ci remonte rapidement à partir du quatrième jour pour décroître à partir du septième jour et donner une valeur inférieure à la fin de l'expérimentation.

— *Avec corticoïdes :* la saignée provoque une chute du taux de globules rouges, mais celui-ci remonte progressivement pour dépasser nettement le taux initial en fin d'expérimentation.

Réticulocytose.

— *Sans corticoïdes :* la saignée provoque une baisse légère du taux de réticulocytes. Celui-ci chute pour remonter en fin d'expérimentation. La valeur finale est nettement supérieure à la valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* la saignée provoque une augmentation jusqu'au quatrième jour. Le taux de réticulocytes chute dès ce jour pour atteindre sa valeur initiale à la fin de l'expérience.

Hématocrite.

— *Sans corticoïdes :* la saignée provoque une chute jusqu'au quatrième jour. La valeur de départ est retrouvée en fin d'expérimentation.

— *Avec corticoïdes :* il y a une baisse légère du taux de l'hématocrite due à la saignée. La valeur remonte ensuite pour dépasser nettement le taux initial.

Hémoglobine.

— *Sans corticoïdes :* le taux d'hémoglobine baisse pour se stabiliser à une valeur inférieure à la valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* il y a diminution de la quantité d'hémoglobine à la suite de la saignée, mais celle-ci se rétablit dès le quatrième jour pour rester identique à la valeur de départ.

Myélogramme.

— *Sans corticoïdes :* il y a augmentation du pourcentage des cellules souches jusqu'au septième jour, puis chute très brutale de ce taux.

— *Avec corticoïdes :* il y a augmentation du nombre des cellules souches jusqu'au quatrième jour, puis chute de ce nombre jusqu'au dixième jour et en fin d'expérimentation nous atteignons, et même dépassons légèrement, la valeur de départ.

Rapport granulo-érythroblastique.

Il traduit exactement le myélogramme.

3. — **Chien N° 3**

Femelle basset griffon de 2 ans, 9 kg - saignée de 140 ml.

Nombre de globules rouges.

— *Sans corticoïdes :* nous obtenons une courbe en dents de scie. A la fin de l'expérimentation, le nombre de globules est nettement inférieur à sa valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* nous obtenons aussi une courbe en dents de scie, à la fin de l'expérience nous avons un nombre de globules rouges supérieur au nombre de départ.

Réticulocytose.

— *Sans corticoïdes :* la saignée ne provoque pas de diminution du nombre de réticulocytes, au contraire, le nombre ne va diminuer qu'à partir du dixième jour pour retrouver sa valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* la saignée provoque une légère chute du taux de réticulocytes. Le nombre augmente ensuite au-delà de sa valeur initiale.

Hématocrite.

— *Sans corticoïdes :* nous obtenons une courbe en dents de scie qui correspond à celle de la numération globulaire. La valeur finale de l'hématocrite est inférieure à la valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* la courbe est en dents de scie et pratiquement superposable à celle correspondant à la numération globulaire. En fin d'expérience, la valeur de l'hématocrite dépasse la valeur initiale.

Hémoglobine.

— *Sans corticoïdes :* le taux d'hémoglobine augmente à la suite de la saignée pour chuter au quatrième jour et augmenter à nouveau pour dépasser nettement la valeur initiale à la fin de l'expérience.

— *Avec corticoïdes :* jusqu'au quatrième jour, il y a une augmentation de la quantité d'hémoglobine, puis une diminution, mais le taux obtenu en fin d'expérimentation est supérieur au taux initial.

Myélogramme.

— *Sans corticoïdes :* il y a une augmentation importante à la suite de la saignée, puis le nombre de cellules souches diminue tout en restant supérieur au nombre initial.

— *Avec corticoïdes :* l'augmentation à la suite de la saignée cesse du quatrième au septième jour pour reprendre ensuite et se situer à un niveau nettement supérieur au niveau initial.

Rapport granulo-érythroblastique.

Traduit exactement le myélogramme.

4. — **Chien N° 4**

Femelle berger de race commune âgée de 6 ans, 20 kg. Saignée de 300 ml.

Nombre de globules rouges.

— *Sans corticoïdes :* nous obtenons une courbe en dents de scie. Le taux final est inférieur au taux initial.

— *Avec corticoïdes :* nous avons une courbe en dents de scie mais avec des amplitudes plus grandes. Le taux final étant ici aussi inférieur au taux initial.

Réticulocytose.

— *Sans corticoïdes :* il y a de grandes variations qui donnent une courbe en dents de scie avec d'importantes amplitudes. Le taux final est supérieur au taux initial.

— *Avec corticoïdes :* il y a une diminution du nombre de réticulocytes jusqu'au quatrième jour, puis une remontée très importante suivie d'une chute qui donne en fin d'expérience une valeur légèrement inférieure à la valeur de départ.

Hématocrite.

— *Sans corticoïdes :* sa valeur reste inchangée jusqu'au quatrième jour pour augmenter ensuite et atteindre un nouveau palier en fin d'expérience. La valeur finale est nettement supérieure à la valeur initiale.

— *Avec corticoïdes :* nous obtenons une courbe en dents de scie qui montre la même valeur de l'hématocrite au début et à la fin de l'expérience.

Hémoglobine.

— *Sans corticoïdes :* à la suite de la saignée, il y a augmentation du taux d'hémoglobine jusqu'au deuxième jour puis une chute rapide jusqu'au septième jour. La quantité d'hémoglobine augmente ensuite pour rester à un niveau inférieur à la valeur de départ.

— *Avec corticoïdes :* la saignée provoque une chute de la quantité d'hémoglobine mais dès le deuxième jour, cette valeur augmente pour diminuer au 10e jour et finalement remonter à un niveau supérieur au niveau initial.

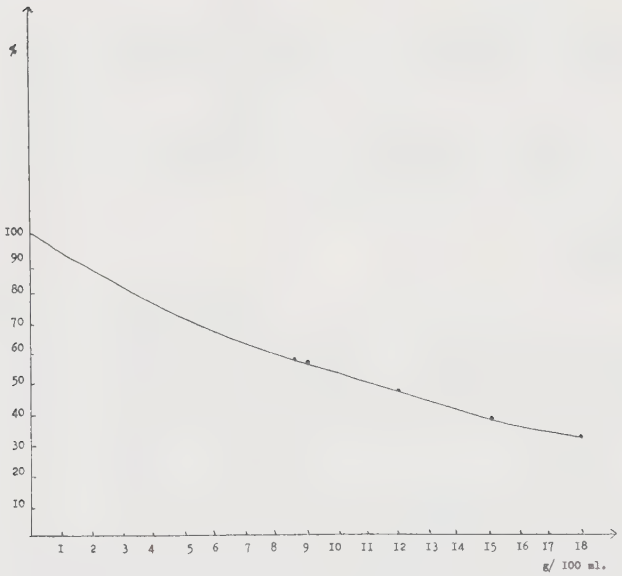
Myélogramme.

— *Sans corticoïdes :* la saignée entraîne une augmentation rapide du taux des cellules souches jusqu'au quatrième jour. Il y a ensuite baisse rapide avec une légère augmentation entre le dixième et le douzième jour. Au début, comme en fin d'expérience, le nombre des cellules souches est pratiquement le même.

— *Avec corticoïdes :* il y a augmentation du nombre des cellules souches jusqu'au dixième jour avec une légère diminution vers le huitième jour. Le taux diminue au quatorzième jour tout en restant nettement plus élevé qu'au début de l'expérience.

Rapport granulo-érythroblastique.

Traduit le myélogramme.



Lumétron 530 nm.

Le 100 % de transmission est fait sur solution de DRADKIN diluée au 1/50.

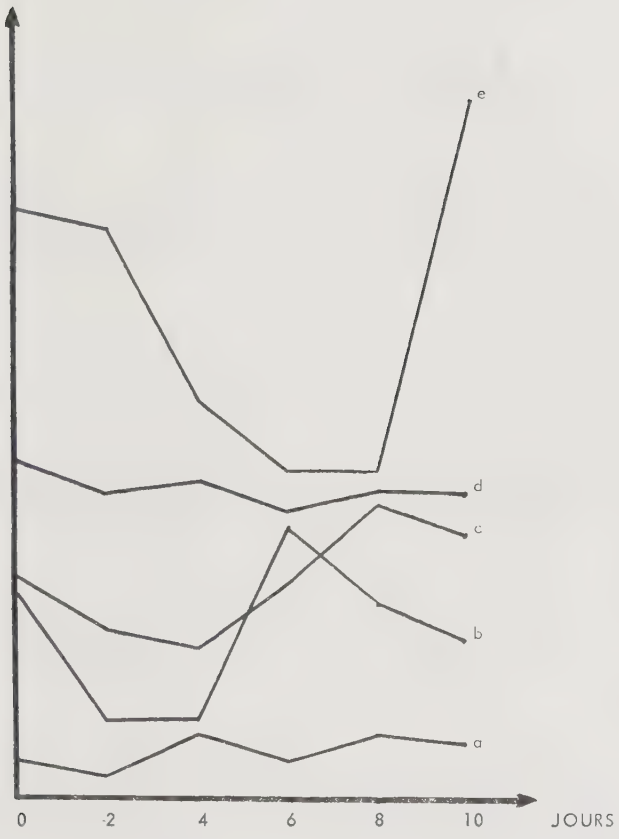
Les résultats obtenus concernant l'hémoglobine totale sont consignés dans les tableaux et sur les courbes représentatives en %. Pour obtenir la quantité d'hémoglobine en g/100 ml, il suffit de se reporter au graphique ci-dessus.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	8,4	7	6,8	7,1	8	8,1
Nombre de réticulocytes	15‰	3‰	2‰	3‰	4‰	0‰
Hématocrite	52%	44%	41%	44%	45%	49%
Hémoglobine totale	34%	42%	43%	42%	42%	37%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0,5%	1%	1%	0,5%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	7%	7%	10%	12%	4%	3%
Erythroblastes polychromatophiles	12%	14%	12%	13%	6%	5%
Erythroblastes acidophiles	11%	5%	12%	13%	8%	7%
Lymphocytes	7%	5%	3%	2,5%	6%	6%
Autres cellules	63%	68%	62%	59%	76%	79%
R (Rapport granulo-érythroblastique)	2,1	2,5	1,7	1,5	2,7	5,2

CHIEN N° 1. — Expérience dite "témoin" sans injection de corticoïdes

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	4,1	5,5	5,5	6,8	6,5	6,5
Nombre de réticulocytes	0‰	0,5‰	8‰	2‰	5‰	4‰
Hématocrite	27%	40%	39%	41%	44%	43%
Hémoglobine totale	52%	44%	42%	43%	40%	40%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	7%	6%	5%	6%	2%	3%
Erythroblastes polychromatophiles	8%	15%	20%	22%	6%	7%
Erythroblastes acidophiles	12%	15%	23%	22%	6%	5%
Lymphocytes	8%	9%	8%	5%	10%	11%
Autres cellules	65%	55%	44%	45%	76%	74%
R (rapport granulo-érythroblastique)	2,4	1,5	0,9	0,9	5,4	

CHIEN N° 2. — Expérience dite "témoin" sans injection de corticoïdes



CHIEN N° 2

Expérience " témoin " sans injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

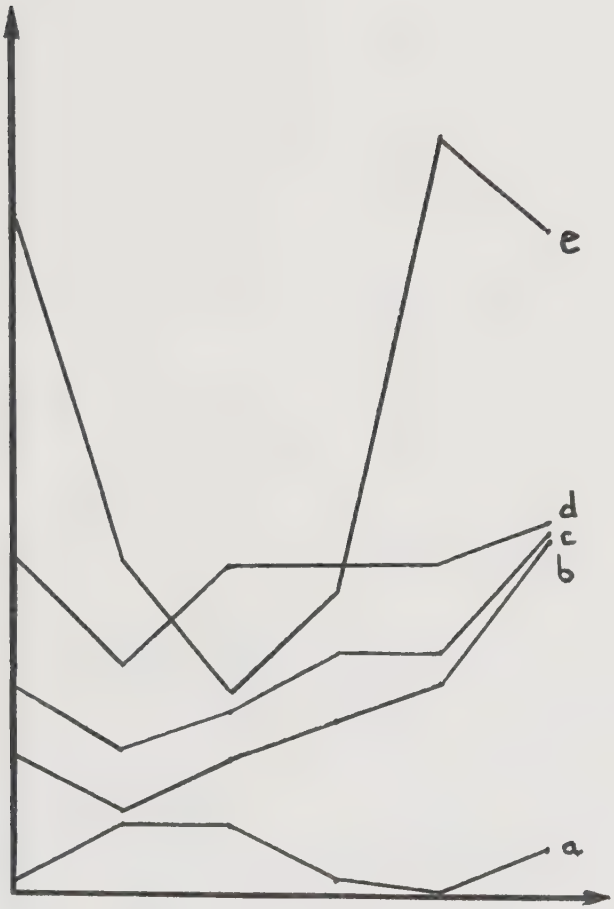
c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	7	6,7	7	7,2	7,5	7,9
Nombre de réticulocytes	1‰	5‰	5‰	1‰	0‰	2‰
Hématocrite	46%	44%	45%	47%	47%	51%
Hémoglobine totale	42%	37%	40%	40%	40%	41%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	4%	2%	2%	2%	4%	3%
Erythroblastes polychromatophiles	12%	17%	22%	14%	10%	13%
Erythroblastes acidophiles	12%	17%	26%	20%	11%	14%
Lymphocytes	7%	9%	6%	12%	10%	4%
Autres cellules	65%	55%	44%	52%	65%	66%
R (rapport granulo-érythroblastique)	2,6	1,5	0,8	1,4	2,6	2,2

CHIEN N° 2. — Expérience avec injection de corticoïdes



Chien N° 2

Expérience avec injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	6,7	6,2	7,3	6,7	7	5,9
Nombre de réticulocytes	1‰	6‰	9‰	18‰	8‰	1‰
Hématocrite	51%	46%	53%	49%	51%	42%
Hémoglobine totale	35%	37%	34%	38%	39%	40%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	1%	1%	2%	3%	1%	1%
Erythroblastes polychromatophiles	9%	14%	17%	25%	26%	14%
Erythroblastes acidophiles	12%	15%	19%	28%	24%	22%
Lymphocytes	5%	4%	6%	4%	4%	6%
Autres cellules	73%	66%	56%	40%	45%	67%
R (rapport granulo-érythroblastique)	3,3	2,2	1,4	0,7	0,8	1,8

CHIEN N° 3. — Expérience dite "témoin" sans injection de corticoïdes

Chien N° 3

Expérience " témoin " sans injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

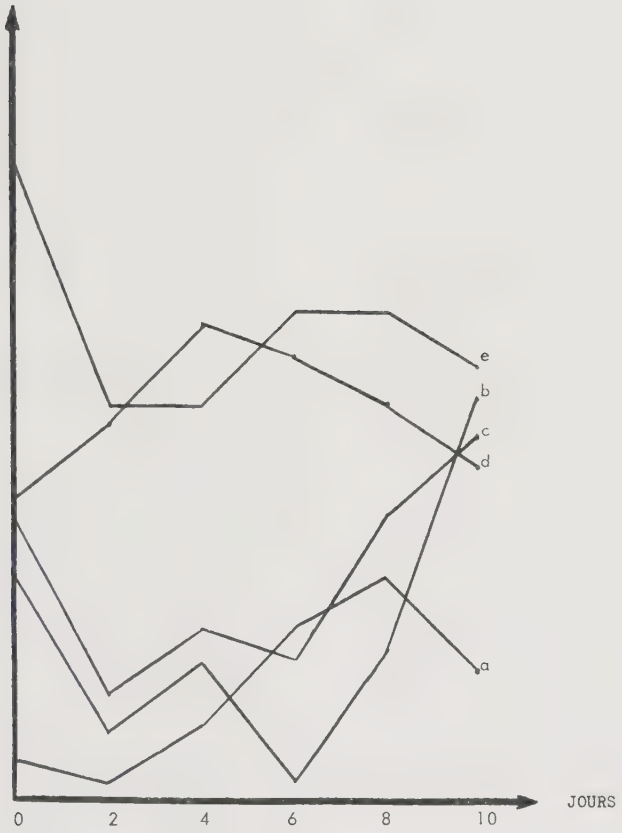
c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	7	6,1	6,3	5,8	6,3	7,3
Nombre de réticulocytes	2‰	1‰	3‰	7‰	9‰	5‰
Hématocrite	50%	43%	45%	44%	50%	52%
Hémoglobine totale	34%	38%	43%	42%	40%	38%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	3%	5%	4%	3%	1%	2%
Erythroblastes polychromatophiles	14%	21%	23%	21%	22%	21%
Erythroblastes acidophiles	16%	24%	23%	19%	21%	23%
Lymphocytes	3%	3%	5%	2%	3%	3%
Autres cellules	64%	47%	45%	55%	53%	51%
R (rapport granulo-érythroblastique)	1,9	0,9	0,9	1,2	1,2	1,1

CHIEN N° 3. — Expérience avec injection de corticoïdes



CHIEN N° 3

Expérience avec injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	6,7	6,4	6,6	6,5	6,6	6,2
Nombre de réticulocytes	15‰	16‰	8‰	18‰	12‰	20‰
Hématocrite	49%	49%	49%	51%	53%	53%
Hémoglobine totale	36%	38%	34%	31%	35%	35%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0,5%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	3%	2%	3%	3%	2%	3%
Erythroblastes polychromatophiles	13%	22%	27%	20%	23%	14%
Erythroblastes acidophiles	15%	24%	28%	26%	27%	15%
Lymphocytes	7%	5%	3%	5%	7%	5%
Autres cellules	62%	47%	39%	45,5%	41%	63%
R (rapport granulo-érythroblastique)	2	0,9	0,6	0,9	0,8	1,9

CHIEN N° 4. — Expérience dite "témoin" sans injection de corticoïdes

CHIEN N° 4

Expérience " témoin " sans injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

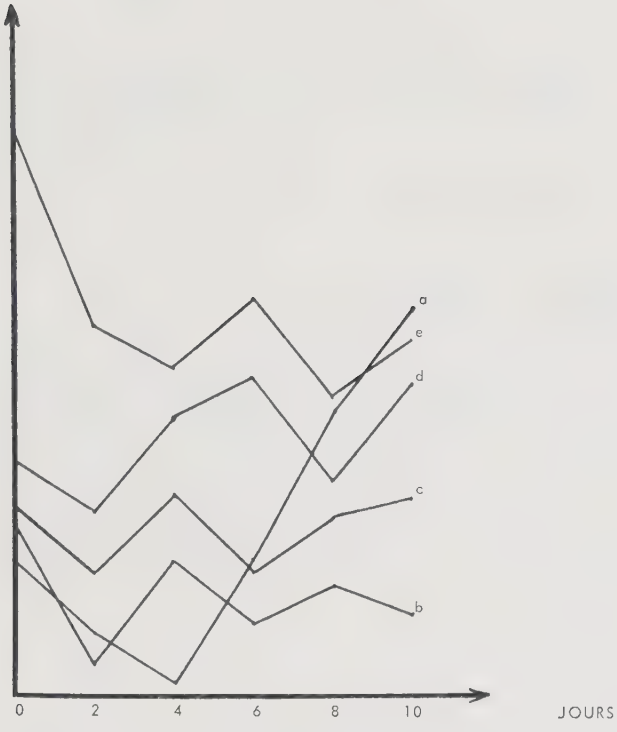
c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

Jours d'expérience	0	2	4	6	8	10
EXAMENS SANGUINS						
Nombre de globules rouges	7	6,3	6,9	6,4	6,6	6,4
Nombre de réticulocytes	5‰	2‰	0‰	5‰	12‰	3‰
Hématocrite	50%	47%	50%	47%	49%	50%
Hémoglobine totale	36%	34%	38%	40%	37%	39%
MYELOGRAMME						
Proérythroblastes	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Erythroblastes basophiles	2%	3%	5%	5%	2%	2%
Erythroblastes polychromatophiles	17%	21%	22%	19%	27%	23%
Erythroblastes acidophiles	14%	23%	22%	22%	25%	22%
Lymphocytes	6%	3%	7%	3%	3%	3%
Autres cellules	61%	50%	44%	51%	43%	50%
R (rapport granulo-érythroblastique)	1,8	1	0,9	1,1	0,8	1

CHIEN N° 4. — Expérience avec injection de corticoïdes



CHIEN N° 4

Expérience avec injection de corticoïdes

a) Nombre de globules rouges en million par mm3 de sang.

b) Nombre de réticulocytes exprimé par rapport à 1 000 hématies.

c) Hématocrite.

d) Hémoglobine totale en % de transmission.

e) Rapport granulo-érythroblastique.

C. — Interprétation des résultats

Du point de vue de l'activité médullaire, les résultats obtenus sont identiques chez les trois animaux utilisés. En ce qui concerne les autres tests pratiqués, il est difficile de se prononcer étant donné que l'allure générale de chaque courbe représentative d'un test est différente.

1. — Nombre de globules rouges

Les corticoïdes ne stimulent pas semble-t-il l'érythropoïèse dans les dix premiers jours. Nous notons que chez les chiens 1 et 2, le nombre de globules rouges augmente à partir du dixième jour avec les corticoïdes alors que dans l'expérience témoin il diminue. Un effet stimulant semblerait donc se manifester mais après un certain temps de latence.

2. — Réticulocytose

Etant donné l'allure absolument hétéroclite des courbes, toute conclusion est impossible.

3. — Hématocrite

Les conclusions sont les mêmes que celles concernant les globules rouges, à savoir qu'un certain effet stimulant semblerait se manifester à partir du dixième jour. Le chien 3 ne répond pas à ce schéma.

4. — Hémoglobine

Les quantités d'hémoglobine sont très peu supérieures à leur valeur de départ. Chez les chiens 1 et 3, l'injection de corticoïdes semble augmenter la quantité d'hémoglobine à partir du dixième jour, alors que dans l'expérience témoin celle-ci reste stationnaire.

5. — Myélogramme

L'action des corticoïdes ne semble pas avoir d'influence significative. Jusqu'au dixième jour, les tracés sont identiques (sauf chez le chien 2). A partir du dixième jour, le nombre de cellules souches augmente (1 et 2) ou diminue moins vite (3) quand on injecte les corticoïdes.

CONCLUSIONS

Nous avons étudié l'action d'un corticoïde, le méthyl prednisolone hémisuccinate de sodium ou solumédrol (ND), pour savoir si une application clinique serait possible dans le cas d'anémie et si des contre-indications peuvent être énoncées.

Pour mener à bien cette étude, nous avons rappelé les aspects morphologiques de l'érythropoïèse ainsi que le rôle de l'érythropoïétine.

L'étude bibliographique nous a montré que l'action exercée par les corticoïdes était en général défavorable à la production de globules rouges.

Les mécanismes d'action demandent cependant à être précisés. On peut noter malgré tout que l'action se situe à deux niveaux :

— un niveau cellulaire avec des doses relativement faibles de corticoïdes ;

— un niveau hormonal avec suppression de la formation d'érythropoïétine avec des doses plus importantes de corticoïdes.

Nous avons effectué une expérimentation sur le chien à l'aide de méthyl prednisolone hémisuccinate de sodium, solumédrol (ND) injecté par voie intra-musculaire à la dose de 1,5 mg/kg durant 6 jours. Cette dose relativement faible a été choisie car notre étude était basée sur les cellules de la moelle osseuse.

A la suite de cette étude, il semble que l'on puisse dire que vers le dixième jour, le nombre de globules, l'hématocrite, le taux d'hémoglobine ainsi que le myélo-

gramme ont tendance à être de valeurs supérieures à celles observées lors des expériences témoins.

L'utilisation de telles substances à un dosage identique à celui que nous avons administré n'est l'objet d'aucune contre-indication.

Cependant, les résultats obtenus étant non significatifs, la corticothérapie ne peut être conseillée de façon constante lors d'anémie.

Vu :
Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire :
Rapporteur,
R. FLORIO

Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire :
Le Directeur,
Professeur R. LAUTIE

Vu :
Le Président de la Thèse :
GADRAT

Vu et permis d'imprimer : Toulouse, le 5 Avril 1973
Le Président de l'Université Paul-Sabatier :
L. LARENG

BIBLIOGRAPHIE

(1) Albert (S.), Gordon (A. S.), Esmail (D.) et coll. — The Renal Erythropoïetic Factor (R.E.F.) VII. Relation to Sex Steroïd Hormone effects on Erythropoïesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1968, 129, 871-874.

(2) Albert (S.), Gordon (A. S.), Edwin (A.), Mirand and Esmail (D.), Zanjani. — Mechanis of prednisolone Action in Erythropoïesis. *Endocrinology*, 81 : 363, 1967.

(3) Bertil (E.), Glader Walter (A.), Rambach and Howard (L.) Alb. — Observations on the effect of testosterone and hydrocortisone on Erythropoïesis.

(4) Bessis (M.). — Traité de Cytologie sanguine. Masson et Cie, édit., Paris, 1954.

(5) Bozzini (C. E.), Barriorendo (M. E.), Kofoed (J. A.) and Frey (G. O.). — Effect of Hydrocortisone Administration on Erythropoïesis in the Adrenalectomized Dog. Catedra de Fisiologia, Facultad de Odontologia. Universidad de Buenos-Aires and Départemento de Aplicaciones, Comision National de Energia Atomica, Buenos-Aires (Argentina). 19 March 1968.

(6) Bozzini (C. E.), Barriorendo (M. E.), Kofoed (J. A.). — Erythrokinetic in adrenalectomized Dog. *Acta. physiol., latinoam*, 18 : 304-310, 1968.

(7) Jurgen Abel and Hubertus Brieger. — Der Einfluss von Prednison anf Erythrocytenzalh, Hämatokritwert und Erythrocyten durchmesser. Winderklinik der Ernest Moritz Arndt-Universität Greifswald (Dinekton : Prof. Dr med. habil. H. Brieger). *Zeitschrift für Vinderheilkunde*, 101, 311-318 (1967).

(8) Katz R. — Studies on the Sites of Erythropoïetin Production. *Dissert. Alstr. Biol.* 1967, 27-37.

(9) Katz (R.), Cooper (G. W.). — Studies on the Sites of Erythropoïetin Production. *Ann. New-York Acad. Sci.*, 1968, 149, 120-127.

(10) Kubanek (B.). — Erythropoïetin : The Haematologist's Hormone. *Horm. Met. Res.*, 1969, 22, 151-156.

(11) Lindemann (O. MD.), Trygstad (O. MD.), Halvorsen (S. MD.). — Pitintary Control of Erythropoïesis. *Scand. J. Haemat.*, 1969, 6, 77-86.

(12) Murphy (G. P.), Mirand (E. A.) et coll. — Renal and Extrarenal erythropoïetin in man. *J. Med.*, 69, 2007-2011.

(13) Olesen (H.), Foch (H.). — Apparent Molecular weight of Erythropoïetin determined by gel filtration. *Scand. J. Haemat.*, 1968, 5, n° 3.

(14) Paul (J.), Hunter (J. A.). — DNA Synthesis in response to erythropoïetin. *Nature*, 1968, 219, 1362-1363.

(15) Sultan (C.), Rochant (H.) et coll. — L'érythropoïèse normale et sa régulation. *Ann. Biol. Clin.*, 25, 1967.

(16) Strubelt (O.). — Der Einfluss von Cortison und Metenolon auf die Erythrocytenlebensdauer der Ratte. *Med. Pharmacol. expert. Suisse*, 1966, 15, n° 6, 555-560.

(17) Yamagata (S.), Goto (Y.), Usuka (Y.), Ouchi (E.). — Longtern corticosteroïd therapy of primary aplastic anaemia and steroïd diabetes as ites complications. *Experta med. internation. Congres Ser. Pays Bas*, 1967, n° 137, 242-245.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 9

CHAPITRE PREMIER. — *ASPECTS MORPHOLOGIQUE ET DYNAMIQUE DE L'ERYTHROPOIESE - ERYTHROPOIETINE* 11

1) *Les cellules : les différents stades de transformation* 12

2) *Mécanisme de différenciation d'une cellule souche en pro-érythroblaste* 14

3) *Etude du facteur humoral : l'érythropoïétine* 15

a) Propriétés physico-chimiques 15

b) Lieu de production de l'érythropoïétine 15

c) Régulation de la production d'érythropoïétine 16

d) Détermination de l'activité de l'érythropoïétine 17

e) Mode d'action de l'érythropoïétine 17

f) Métabolisme de l'érythropoïétine 19

CHAPITRE DEUXIEME. — *ACTION DES CORTICOIDES SUR L'ERYTHROPOIESE* 21

1) *Les expériences mettant en jeu de faibles doses de corticoïde* 21

a) Les expériences de néphrectomie bilatérale 21

b) Les expériences sur des animaux normaux 22

2) *Les expériences mettant en jeu de fortes doses de corticoïde* . 22

a) Action de l'hydrocortisone 22

b) Action de l'acétate de méthyl prednisolone 23

c) Action de la cortisone 24

3) *Mécanisme d'action* 24

a) Observations cliniques 24

b) Résultats expérimentaux 25

CHAPITRE TROISIEME. — *EXPERIMENTATION PERSONNELLE* 27

A. - Choix des techniques et protocole expérimental 27

I. - Choix des techniques 27

1) *Les examens sanguins* 28

a) Numération globulaire 28

b) Hématocrite 28

c) Morphologie des globules rouges 28

d) Taux d'hémoglobine pour 100 ml de sang 29

e) Numération des réticulocytes 29

2) *L'examen de la moelle osseuse* 29

a) Technique de la ponction osseuse 29

b) Myélogramme 30

3) *Rapport granulo-érythroblastique* 30

II. - Protocole expérimental 31

1) *Examens préliminaires* 31

2) *Premier temps : étude de la régénération sanguine après saignée et sans administration de corticoïde* 31

3) *Deuxième temps : étude de la régénération sanguine après saignée et avec administration de corticoïde* 32

B. - Etude expérimentale 33

1) Chien n° 1 33

2) Chien n° 2 34

3) Chien n° 3 36

4) Chien n° 4 38

C. - Interprétation des résultats 54

1) Nombre de globules rouges 54

2) Réticulocytose 54

3) Hématocrite 54

4) Hémoglobine 54

5) Myélogramme 55

CONCLUSIONS 57

BIBLIOGRAPHIE 59

Imp. Bosc Frères, Lyon - Dépôt légal n° 5707 - 4e trimestre 1973